

УДК 576.895.421 : 591.169.2

© 1993

РЕГЕНЕРАЦИЯ КОНЕЧНОСТЕЙ У ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ

В. Н. Белозеров

Опытами с тремя видами иксодид показано, что эффект ампутации конечностей у сытых нимф зависит от времени проведения операции. Способность к полной регенерации конечностей и свойственных им структур (в частности, органа Галлера на лапках передних ног) клещи обнаруживают лишь до начала линочных процессов (в период сохранения подвижного состояния сытых нимф у *Haemaphysalis longicornis* и *Hyalomma asiaticum*, или морфогенетической диапаузы нимф у *Ixodes ricinus*). Операции после начала аполиза вызывают образование у взрослых клещей уродливых и дефектных регенераторов, или их миниатюризацию; нередки случаи появления безногих имаго. Операции на нимфах непосредственно перед их линькой не оказывают воздействия или ведут к образованию у взрослых клещей культи на лапке (или голени) ампутированной ноги.

Способность к регенерации придатков тела широко распространена среди членистоногих, однако достаточно подробно эти явления изучены лишь у насекомых и ракообразных (Bodenstein, 1953; Wigglesworth, 1967; Goss, 1969; Skinner, 1985; Карлсон, 1986). Характерной чертой регенерации у членистоногих является ее тесная связь с линочными процессами, вследствие чего восстановление утраченных конечностей возможно у них только после линьки (Goss, 1969).

Иксодоидные клещи в отношении регенерации изучены очень плохо, хотя вопрос этот здесь, помимо научного, имеет и практическое значение (в связи с возможностью повреждений, причиняемых клещам хозяевами во время паразитирования, а после насыщения и отпадения — хищными членистоногими). Основными объектами немногочисленных исследований по этому вопросу являлись представители сем. Argasidae (Hindle, Cunliffe, 1914; Nuttall, 1920; Sampana-Rouget, 1946; Obenchain, Oliver, 1972; Rockett, 1975; Сидорова, 1977). Собственно иксодовым клещам (сем. Ixodidae) посвящены всего две публикации (Nuttall, 1920; Rockett, Woodring, 1972), материалы которых свидетельствуют о том, что иксодид отличает высокая способность к регенерации, в чем они превосходят всех прочих клещей, в том числе и родственных им аргазид. Если большинство исследованных клещей как акариiformных (акариды, орбатиды, тетрахиды), так и паразитiformных (гамазиды, уроподиды) плохо переносят ампутацию конечностей и практически не способны к регенерации, то у иксодоидных клещей возможна полная регенерация ампутированных ног, причем у аргазид не ранее, чем после двух линек, тогда как иксодидам для этого достаточно даже однократной линьки (Rockett, Woodring, 1972).

В настоящем сообщении представлены материалы опытов с ампутацией конечностей у нимф трех видов иксодид, относящихся к обоим подсемействам этих клещей: Ixodinae (*Ixodes ricinus*) и Amblyomminae (*Haemaphysalis longicornis*, *Hyalomma asiaticum*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В опытах использовали нимф из лабораторных культур, которые были основаны от клещей, собранных в Молдове (*I. ricinus*), Южном Приморье (*I. longicornis*) и Туркменистане (*I. asiaticum*). У нимф, накормленных на белых мышах, в разные сроки после насыщения с помощью ножниц Веккера отрезали четыре дистальных членика I левой ноги, сохраняя два проксимальных членика: коксус и вертлуг. В ряде случаев подобную операцию проводили на I—IV левых ногах (правые ноги оставались в качестве контроля), иногда в сочетании с ампутацией дистальной части гнатосомы. Операции проводили без наркоза, а нимф для ограничения их подвижности закрепляли спинной стороной на липкой ленте (лейкопластирь). До и после операции нимф содержали во влажных садках-пробирках при определенной температуре (18, 22 или 25°) в условиях длиннодневного фотопериода (20 час/света в сутки), регистрируя сроки линьки и полученный результат (наличие и характер регенерации), фиксируя затем клещей в 70-градусном этиловом спирте для последующих исследований методом светооптической или растровой электронной микроскопии. Электронно-микроскопические исследования последствий ампутации проведены совместно с С. А. Леоновичем на растровом микроскопе Хитачи S-570 в лаборатории паразитологии Зоологического института РАН.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

ОПЫТЫ С НИМФАМИ *IXODES RICINUS*

В опытах использовали срытых диапаузирующих нимф, сдавливавшихся до операции при 18° и 20 час/света (на 22, 37 и 50-й дни после их насыщения). Большинство нимф в это время оставалось в подвижном состоянии (благодаря морфогенетической диапаузе), но отдельные особи на 37-й и 50-й дни уже обнаруживали оцепенение (в результате начала линочных процессов) и при переносе в условия более высокой температуры (25°) им для линьки на имаго было достаточно 8—12 дней. Диапаузирующим нимфам для начала линочных процессов требовалось дополнительное время, и линька на имаго происходила у них за 35—60 дней позднее.

Нимфы этих двух групп обнаруживали принципиальные различия и по результатам ампутации конечностей. При проведении операции на линяющих нимфах у имаго наблюдалось не восстановление ампутированной конечности, а образование на ней культи. Характерно, что культа формировалась не в месте ампутации (у основания бедренного членика), а значительно дистальнее — на голени или лапке (рис. 1, а). Такое смещение культи связано с тем, что у фарматных имаго формирующиеся придатки оттягиваются внутрь линочной полости в идиосоме линяющих нимф (Falke, 1931; Балашов, 1967; Rockett, Woodring, 1972), отчего при операции отсекаются лишь дистальные части конечности. Следует отметить, что отрезание передней части хоботка у линяющих нимф, предпринятое в ряде опытов, не вызывало повреждения этого органа у взрослых клещей. Связано это с тем, что оттягивание закладок имагинальной гнатосомы в ходе линочных процессов начинается раньше и заходит глубже, чем у закладок ног.

Иной результат наблюдался при проведении операций на нимфах, остававшихся в состоянии морфогенетической диапаузы и не приступивших к развитию. В этих случаях у перелинявших взрослых клещей имела место полная регенерация ампутированных конечностей, причем на лапках передних ног наблюдалось восстановление таких сложных рецепторных структур, как орган Галлера. Регенерировавшие конечности по своим размерам несколько уступали, однако, контролю. Особенно заметные различия между левой (оперированной) и правой

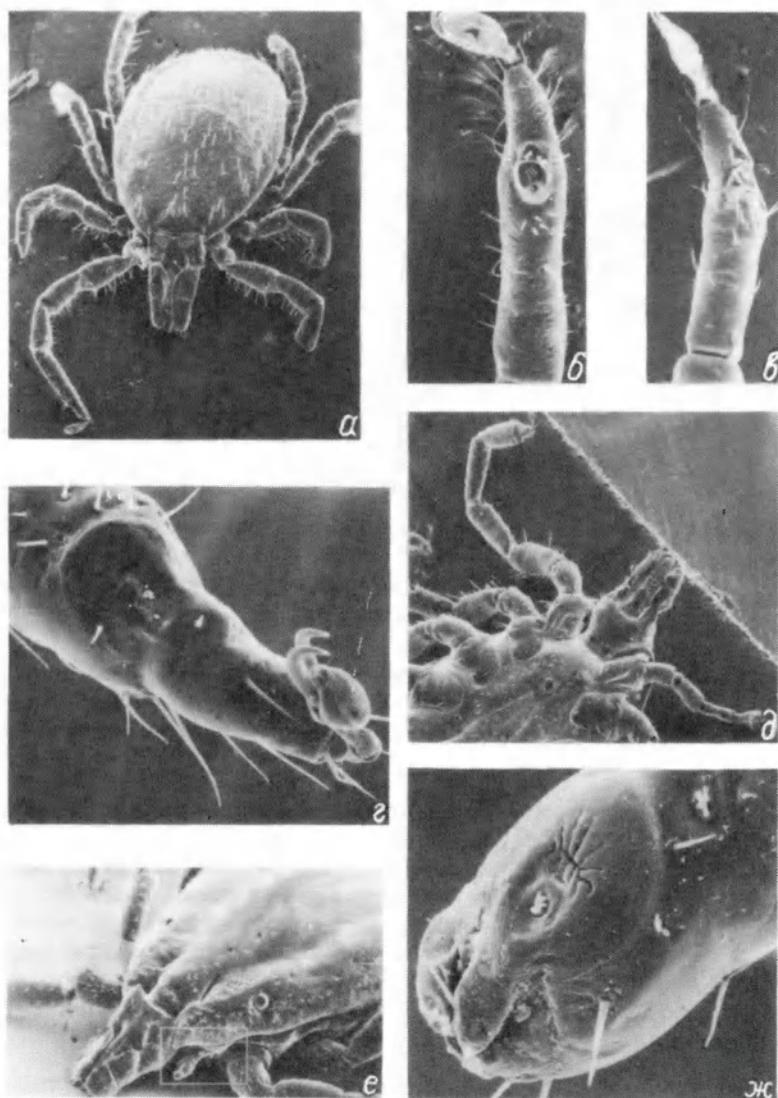


Рис. 1. Результаты ампутации конечностей у нимф иксодовых клещей.

Fig. 1. Results of limb amputation in nymphs of ixodid ticks.

Ixodes ricinus: *a* — образование культи на I—II левых ногах имаго, *б* — лапка I левой ноги у имаго после регенерации; *Haemaphysalis longicornis*: *в* — лапка I левой ноги у самки после регенерации; *Hyalomma asiaticum*: *г* — лапка I левой ноги у самки после регенерации, *д—е* — регенерация карликовой и уменьшенной передней левой ноги у взрослых клещей, *ж* — образование культи на лапке передней левой ноги самки.

(контрольной) ногами касались размеров и формы лапки (рис. 2). Лапка оперированной ноги была короче нормы в среднем на 16—21 %, для нее было характерно искривление вершины и возникновение заметного вздутия на уровне капсулы органа Галлера. Лапка в этом месте была на 17—25 % толще нормы (рис. 1, *б*). Как показали специальные исследования на растровом электронном микроскопе, проведенные совместно с С. А. Леоновичем (ЗИН РАН), регенерация лапок передних ног сопровождалась характерными изменениями в строении самого органа Галлера (материалы этого исследования составляют предмет отдельного сообщения).

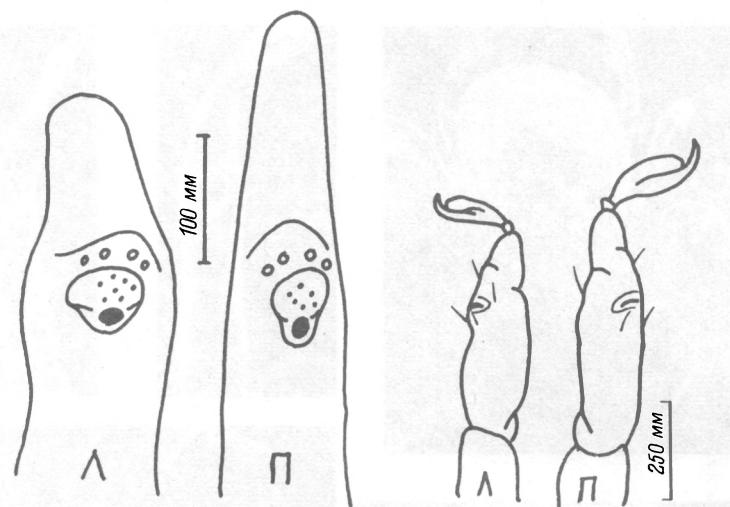


Рис. 2. Тарзальные членики на левой, ампутированной (Л) и правой, контрольной (П) передних ногах у самки *Ixodes ricinus*.

Fig. 2. Tarsal segments of control (right) and regenerated (left) foreleg in *Ixodes ricinus* adult female.

Рис. 3. Тарзальные членики и амбулакральные аппараты на левой, ампутированной (Л) и правой, контрольной (П) передних ногах у самки *Haemaphysalis longicornis*.

Fig. 3. Tarsal segments and claws of control (right) and regenerated (left) foreleg in *Haemaphysalis longicornis* adult female.

Выживаемость оперированных нимф *I. ricinus* обычно составляла 100 % [в 8 вариантах опытов с диапаузирующими нимфами ($n=50$) и в 3 — с линяющими нимфами ($n=18$)]. Гибель нимф (9 из 21) наблюдалась лишь в двух вариантах, где диапаузирующих клещей оперировали через 50 дней после насыщения, а удаление передней левой ноги сочеталось с обрезанием вершины гнатосомы. В этом отношении *I. ricinus* обнаруживал существенные отличия от *Amblyomma americanum*, у которого, согласно данным Роккета и Вудринга (Rockett, Woodring, 1972), летальный эффект оказывали лишь операции на нимфах, находившихся в линочном состоянии.

ОПЫТЫ С НИМФАМИ *HAEMAPHYSALIS LONGICORNIS*

Для нимф партеногенетической расы *H. longicornis*, которые использовались в наших исследованиях, характерно быстрое, бездиапаузное развитие. В стандартных условиях (22° и 20-часовой фотопериод), при которых содержались клещи данного вида, для развития сытых нимф и превращения их в самок требовался 18—21 день. На протяжении первых 4—5 дней насосавшиеся нимфы сохраняют подвижность, а затем, в связи с начавшимися процессами аполиза, впадают в состояние оцепенения. Операции по удалению конечностей проводились на нимфах как до начала линочных процессов (первые 4 дня после отпадения сытых нимф), так и во время этих процессов (6—9-й дни), а также накануне линьки (15—18-й дни).

Как показали проведенные опыты, эффект ампутации зависит от времени проведения операции и от состояния клещей в этот момент.

В тех случаях, когда операция проводилась на сытых нимфах, сохранявших подвижность, наблюдалась практически полная регенерация ампутированных конечностей. Именно в этот период ампутация ног у нимф *H. longicornis* по своим

результатам была сопоставима с операциями на нимфах *I. ricinus*, находившихся в состоянии морфогенетической диапаузы. У самок *H. longicornis*, полученных от оперированных нимф, левые, (т. е. ампутированные на нимфальной фазе) ноги по степени развития почти не отличались от правых (контрольных) ног. Это в первую очередь касается ног II—IV пар. Однако на передних ногах, как и у предыдущего вида, наблюдалось укорочение лапки (в среднем на 20 %) и искривление ее вершины (рис. 1, в; 3). Выживание оперированных нимф в этих вариантах ($n=98$) составляло 100 %.

При более поздних операциях, когда их проводили на оцепеневших нимфах ($n=87$) с первыми признаками линочных процессов в виде появления позади гнатосомы светлого пятна, связанного с образованием линочной полости, регенерировавшие у взрослых клещей конечности обнаруживали разнообразные уродства и деформации (укорочение отдельных члеников или их исчезновение). Нередко наблюдалась утрата оперированной конечности (до коксы или вместе с коксой). Большое разнообразие повреждений наблюдалось, несмотря на то что ампутация проводилась на одном и том же уровне (основание бедра). О большой изменчивости результатов в этот период особенно наглядно свидетельствуют опыты с ампутацией у нимф всех четырех левых ног: после этих операций одни имаго могли на всех левых ногах иметь укороченные лапки без коготков, у других особей левые ноги I—II или I и IV пар имели укороченные лапки, а на ногах III—IV или II—III пар соответственно оставалось по 3—4 членика. Наблюдались и такие случаи, когда у самок с левой стороны имелось всего по 2—3 ноги с укороченными лапками (от остальных левых ног оставались только коксы). Несмотря на такие повреждения, выживаемость оперированных клещей в этих опытах была достаточно высока (60—90 %). Лишь в тех вариантах, где ампутация ног сочеталась с ампутацией вершины гнатосомы, наблюдалась гибель практически всех прооперированных нимф (основной причиной их гибели являлось, по-видимому, попадание воздуха в линочную полость нимфы через поврежденную гнатосому).

Наконец, при ампутации ног у нимф накануне линьки ($n=47$), для конечностей перелинявших имаго было характерно повреждение или отсутствие амбулакрального аппарата. Выживание оперированных нимф составляло здесь также 100 % (гибель наблюдалась лишь в варианте с обрезанием вершины гнатосомы).

Ампутация конечностей (не только одной передней левой, но даже всех четырех ног левой стороны) практически не сказывалась на сроках метаморфоза оперированных нимф, особенно если операция проводилась после начала аполиза и накануне линьки. Лишь в операциях на подвижных нимфах наблюдалась задержка развития на 2—3 дня по сравнению с нормой (18—21 день).

ОПЫТЫ С НИМФАМИ *HYALOMMA ASIATICUM*

Нимфы *H. asiaticum*, использованные в опытах (первое лабораторное поколение от самок из Туркмении), содержались в стандартных условиях 25° и 20 час/света, где им после насыщения для превращения в имаго требовалось 30—35 (в среднем 32.7) дней, из которых 7—8 дней они сохраняли подвижность, а остальное время находились в состоянии оцепенения. Операции на нимфах *H. asiaticum* проведены в период сохранения ими подвижности в первые 8 дней после насыщения ($n=88$), во время метаморфоза, с 10-го по 22-й день ($n=94$) и накануне линьки, на 30—33-й дни ($n=12$).

Проведенные опыты показали, что полная регенерация конечностей у имаго *H. asiaticum*, как и у рассмотренного выше *H. longicornis*, возможна лишь в тех случаях, когда ампутация ног проводится на сытых нимфах в период сохранения ими подвижного состояния (т. е. до начала линочных процессов). Лишь в этих случаях регенераты ампутированных конечностей у *H. asiaticum* имели

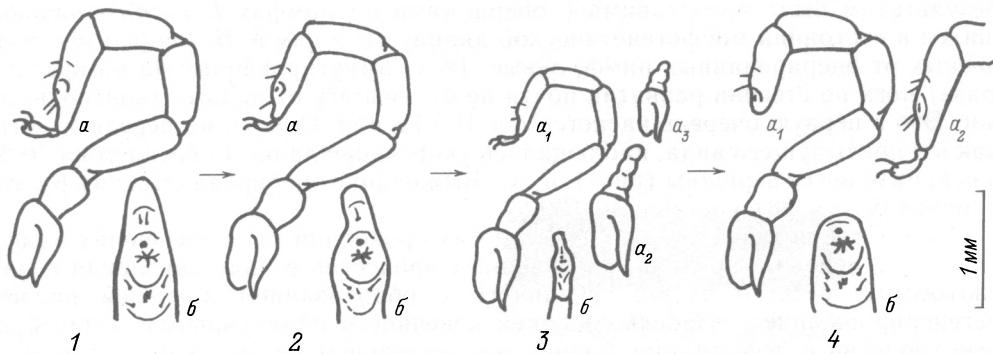


Рис. 4. Состояние передней левой ноги у взрослых клещей (на примере *Hyalomma asiaticum*) в контроле (1) и в зависимости от времени ампутации этой ноги у сытых нимф (2—4).

Fig. 4. The state of left foreleg in adult ticks *Hyalomma asiaticum* in control (1) and after amputation of this leg in nymphs at different time after their engorgement (2—4).

а — вид передней левой ноги имаго сбоку; б — вид тарзального членика передней левой ноги имаго сверху (в вариантах а и а₁); 2 — операция на подвижных сытых нимфах; 3 — операция на оцепеневших сытых нимфах (после начала аполиза); 4 — операция на нимфах незадолго до их линьки на имаго.

нормальные размеры и обнаруживали восстановление всех структур — амбулакрального аппарата, органа Галлера и пр. (рис. 1, г; рис. 4).

Подобная регенерация была невозможна, как правило, если операция проводилась на сытых нимфах в середине межлиночного периода (10—22-й дни после насыщения), т. е. во время интенсивных морфогенетических процессов. Оперативное воздействие в этот период оказывало существенный негативный эффект на процессы морфогенеза, приводящий к появлению разнообразных уродств и деформаций формирующейся конечности (рис. 1, д, е; рис. 4). Чаще всего это проявлялось в виде миниатюризации регенерата или практически полной утраты конечности (нередко вместе с коксальным члеником), укорочения дистальных члеников (в частности лапок и коготков на 20—70 % по сравнению с нормой) и их утраты, реже в виде образования культи (рис. 1, ж). Деформации и уродства наблюдались у всех клещей, прооперированных в этот период. Вместе с тем последствия ампутации конечностей у нимф *H. asiaticum* (как и у *H. longicornis*) в этот период сильно варьировали. При одновременном удалении всех левых ног, например, нимфы превращались в имаго, которые наряду с недоразвитыми и дефектными конечностями могли иметь на левой стороне тела и полностью сформированные ноги.

В конце рассматриваемого периода эффект ампутации заметно ослабевал (операция вызывала лишь утрату коготка или вершины лапки), а непосредственно перед линькой эффект ампутации полностью исчезал (у оперированных клещей конечности не имели отклонений от нормы). Последнее связано с тем, что перед самой линькой имагинальные конечности практически целиком втянуты в линочную полость идиосомы нимфы, а коготки на лапках не выступают за пределы коксального членика, избегая поэтому оперативного воздействия.

Выживаемость нимф составляла 100 % (когда их оперировали в подвижном состоянии или перед самой линькой) и 82 % (когда операция проводилась на нимфах в состоянии метаморфоза). Смертность нимф в последнем случае была особенно велика (25 %), если ампутация ног у них сочеталась с отсечением вершины гнатосомы (без такого воздействия смертность составляла 15 %). Ампутация не сказывалась и на продолжительности развития нимф *H. asiaticum* (сроки их превращения во взрослых клещей после ампутации одной или всех ног левой стороны не отличались от нормы).

ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные нами опыты с ампутацией конечностей у нимф трех видов иксодовых клещей подтвердили имеющиеся в литературе сведения (Nuttall, 1920; Rockett, Woodring, 1972) о высокой способности этих специализированных паразитических членистоногих к репаративной регенерации. Вместе с тем наши данные показали, что высокую регенеративную способность нимфы иксодид обнаруживают лишь в начальный период после их насыщения, который характеризуется сохранением подвижности и предшествует началу аполиза (рис. 4, 2). При бездиапаузном развитии этот период составляет 20—25 % от времени между отпадением насосавшихся нимф и их превращением во взрослых клещей (7—8 дней при 25° — у *Hyalomma asiaticum* и 4—5 дней при 22° — у *Haemaphysalis longicornis*). При наличии морфогенетической диапаузы (*Ixodes ricinus*) способность к полной регенерации ампутированных конечностей сохраняется в течение всего периода задержки начала линочных процессов (до нескольких месяцев). Операция в этот период не оказывается на последующих формообразовательных процессах, происходящих во время нимфально-имагинального метаморфоза, благодаря чему регенераты у имаго по строению вполне сопоставимы с нормальными конечностями, хотя несколько уступают им в размерах. Следует подчеркнуть, что способность к репаративной регенерации, обнаруженная у диапаузирующих нимф *I. ricinus*, характеризует малоизученную еще физиологическую особенность диапаузы не только у иксодовых клещей, но и других, по-видимому, членистоногих и заслуживает поэтому особого внимания.

Нормальная регенерация становится, однако, невозможной, если ампутация конечностей у сытых нимф проводится после их оцепенения, т. е. с началом аполиза (рис. 4, 3). Операция в этих случаях оказывает негативное воздействие на формообразовательные процессы и ведет к образованию у имаго уродливых, деформированных и недоразвитых регенератов. Эффекты такого рода характерны для основного по продолжительности периода жизни сытых нимф от их насыщения до превращения в имаго (60—70 % этого периода). Учитывая эффекты ампутации, обнаруженные в наших опытах, а также особенности формирования придатков тела у иксодид в ходе нормальных линочных превращений (Балашов, 1967; Rockett, Woodring, 1972), следует думать, что регенерация конечностей у них происходит путем не эпиморфоза (развитие зачатка, образующегося на раневой поверхности), а морфаллаксиса (развитие зачатка, образующегося в результате перестройки остатка старого органа) (Лиознер, 1964; Карлсон, 1986).

Наконец, операции непосредственно перед линькой нимф в имаго либо совершенно не сказывались на конечностях (у прооперированных клещей они не имели отклонений от нормы), либо вели к образованию культи на лапке (или голени), т. е. намного дистальнее места ампутации (рис. 4, 4). Такой неожиданный результат связан с тем, что у иксодид перед самой линькой сформированные имагинальные конечности втянуты в линочную полость идиосомы нимф, благодаря чему они избегают оперативного воздействия (или воздействие затрагивает лишь самые дистальные отделы конечности).

Подтверждая данные Роккета и Вудринга о высокой способности иксодид к репаративной регенерации, наши материалы показывают вместе с тем, что эта способность не остается неизменной у насосавшихся нимф, а утрачивается с началом линочных превращений.¹ Нельзя не отметить, что в наших опытах

¹ Как нам стало известно после оформления данной статьи, сходные опыты с аналогичными результатами, свидетельствующими о зависимости степени и полноты регенерации конечностей у взрослых клещей *Hyalomma asiaticum* и *H. anatolicum* (а также *Haemaphysalis otophila*) от времени ампутации ног у сытых нимф этих клещей, были проведены еще в 1964—1966 гг. В. Н. Крючниковым (Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, Москва). Полная регенерация имагинальных ног наблюдалась им, как и нами, в случае проведения операции на

(в отличие от данных Роккета и Вудринга) иксодиды одинаково легко переносили ампутацию конечностей как до начала аполиза, так и во время осуществления линочных превращений.

Считается, что способность к регенерации и ее масштабы сужаются в ходе эволюции, в частности при переходе к паразитическому образу жизни (Лиознер, 1977). С последней закономерностью совершенно не согласуются литературные сведения (Nuttall, 1920; Rockett, Woodring, 1972) и полученные нами данные по иксодидам, которые являются высокоспециализированными временными паразитами. Не исключено, что высокая регенеративная способность у иксодид связана с наличием длительной стадии паразитирования и представляет адаптацию к повреждениям, причиняемым прокормителями.

В заключение следует подчеркнуть, что исследования регенерации у иксодид могут дать ценный материал для объяснения причин различных уродств, встречающихся у этих клещей (Сампрана-Руэт, 1959), а также для понимания морфогенетических процессов у них в ходе линочных превращений. Следует думать также, что широкомасштабные исследования регенерации у различных иксодид дадут дополнительный материал по эволюционным отношениям между представителями этой группы паразитических членистоногих.

Список литературы

Балашов Ю. С. Кровососущие клещи (Ixodoidea) — переносчики болезней человека и животных. Л., 1967. 319 с.

Карлсон Б. М. Регенерация. М., 1986. 296 с.

Лиознер Л. Д. К классификации регенерационных процессов // Тр. Моск. об-ва испыт. природы. 1964. Т. 9. С. 7—20.

Лиознер Л. Д. Распространение и эволюция регенерационной способности // Новое в учении о регенерации. М., 1977. С. 21—40.

Сидорова В. Ф. Проявление регенерационной способности в онтогенезе // Новое в учении о регенерации. М., 1977. С. 41—84.

Bodensteiñ D. Regeneration // Insect physiology (K. Roeder, ed.). N. Y. 1953. P. 866—878.

Сампрана-Руэт Y. La regeneration chez Ornithodoros parkeri et son influence sur la mue // Ann. parasit. hum. comp. 1946. Т. 20. P. 321—329.

Сампрана-Руэт Y. La teratologie des tiques // Ann. parasit. hum. comp. 1959. Т. 34. P. 209—260, 354—431.

Falke H. Beitrage zur Lebensgeschichte und zur postembryonalen Entwicklung von Ixodes ricinus // Zeitschr. Morphol. Oekol. Tiere. 1931. Bd 21. S. 567—607.

Goss R. J. Principles of regeneration. N. Y. 1969. 287 p.

Hindle E., Cunliffe N. Regeneration in Argas persicus // Parasitology. 1914. Vol. 6. P. 353—371.

Nuttall G. H. F. Regeneration of the mouth parts and legs in ticks // Parasitology. 1920. Vol. 12. P. 7—26.

Obenchain F. D., Oliver J. H. Abnormalities of leg regeneration in Argas radiatus // J. Georgia Ent. Soc. 1972. Vol. 7. P. 204—208.

Rockett C. L. Limb regeneration and apolysis in the tick Ornithodoros tartakovskyi // J. Insect Physiol. 1975. Vol. 21. P. 1939—1944.

Rockett C. L., Woodring J. P. Comparative studies of Acarina limb regeneration, apolysis and ecdysis // J. Insect Physiol. 1972. Vol. 18. P. 2319—2336.

Skinner D. H. Molting and regeneration // The Biology of Crustacea. Vol. 9. Integument. N. Y. 1985. P. 43—135.

Wigglesworth V. B. The principles of Insect Physiology. London. 1967. 741 p.

Биологический научно-исследовательский институт
Санкт-Петербургского университета

Поступила 24.06.1991

свеженасосавшихся нимфах. Операции же на нимфах, начавших метаморфоз, имели результатом уменьшение размеров конечности, утрату дистальных членников регенерата или даже всей ноги целиком (в последнем случае у взрослых клещей происходило сближение кокс сохранившихся ног и восстановление координации их локомоторной функции). К сожалению, материалы этих исследований остались неопубликованными. Пользуюсь случаем поблагодарить В. Н. Крючечникова за предоставленную информацию.

LIMB REGENERATION IN IXODID TICKS

V. N. Be~~l~~ozerov

Key words: Ixodidae, limb regeneration, teratology

SUMMARY

Experiments with three species of ixodid ticks have demonstrated that an effect of limb amputation in engorged nymphs depends on the time of operation. Engorged nymphs are capable of complete limb regeneration with restoring their structural elements (especially the Haller's organ on tarsi of forelegs) only before apolysis, during the active crawling state in *Haemaphysalis longicornis* and *Hyalomma asiaticum*, or during morphogenetic diapause in *Ixodes ricinus*. The restoration of amputated legs takes place after nymphs moult to adults. Limb amputation after the beginning of apolysis results in the formation of ugly and defective regenerates or in their miniaturization (sometimes amputated legs are absent completely). Limb amputation just before ecdysis either has no effect at all or results in a stump formation on tarsi or tibia of amputated legs.